19206 cl. II

Lane Medical Library

Ueber Immunisierung

durch die Milch typhöser Ammen.

INAUGURAL-DISSERTATION

der

medicinischen Facultät

der

Kaiser Wilhelms-Universität Strassburg

zur

Erlangung der Doktorwürde

vorgelegt von

CARL BERNHARD

pract. Arzt

aus Strassburg i. E.

STRASSBURG i. E.
Buchdruckerei C. & J. Gœller, Magdalenengasse 20.
1899.

Gedruckt mit Genehmigung der medicinischen Facultät der Universität Strassburg.

Referent: **Prof. Dr. Naunyn.**

Meinen Eltern

in Dankbarkeit gewidmet.

Im Laufe des Sommers 1898 fanden in der hiesigen medicinischen Universitäts-Klinik in kurzem Intervall zwei an Abdominaltyphus erkrankte Ammen Aufnahme. Mit der ersten dieser typhösen Ammen wurde von dem damaligen Abteilungsassistenten Herrn Privatdocenten Dr. Ehret, dem ich die Anregung zu dieser Arbeit verdanke, eine grössere Anzahl von Versuchen an Mäusen angestellt. Mit der Milch der zweiten Amme konnte äusserer Umstände halber nur ein einziger Versuch mit Controlversuch vorgenommen werden.

Ich gebe zunächst die Protocolle über diese Versuche, sowie Auszüge aus den beiden Krankengeschichten, deren Benutzung mir von Herrn Geh. Rat Prof. Dr. Naunyn gütigst gestattet wurde.

FALL I.

S. G., 21 Jahre alt, aus Gries. 1. Juni 1898.

Anamnese: Patientin war früher stets gesund. Vor einem halben Jahre normaler Partus. Seitdem dient sie als Amme. Sie hat gestern noch gestillt; das Kind ist gesund. Vor 4 Tagen Beginn der jetzigen Erkrankung mit Kopfschmerzen, reichlichen Durchfällen und Appetitlosigkeit. In den ersten Tagen Ohren-

schmerzen und Schwerhörigkeit. Das Fieber hat allmählich an Stärke zugenommen und war heute Morgen am heftigsten. Erbrechen soll in den ersten Tagen reichlich bestanden haben.

Status: Mässiger Grad von passiver Bettlage; leichte Cyanose der Lippen. Letztere sind trocken, borkig. Zunge trocken; am Pharynx nichts besonderes.

Leichter Grad von Dyspnoe; kein Exanthem, keine Roseola, keine Oedeme, Reflexe normal. Nervenstämme auf Druck nicht schmerzhaft, Gelenke ebenfalls nicht. Finger etwas kolbig, erheblicher Tremor. — Rechtes Trommelfell leicht gerötet am oberen hinteren Quadranten; Injection der Hammerarterie. Linkes Ohr normal. Nase: Chronische Rhinitis atrophicans; Epistaxis.

Thorax symmetrisch gebaut, Wirbelsäule gerade. Hinten keine Dämpfung. Ueber dem ganzen rechten Unter- und Mittellappen reichliche mittelgrossblasige Rasselgeräusche, namentlich in den tiefsten Partieen. Links sind die Geräusche spärlicher. Pectoralfremitus beiderseits gleich. Ueber der linken Spitze gelegentlich Giemen; über der rechten Spitze nichts Abnormes. Auch rechts vorne über der Lunge zahlreiches Schnurren. — Cor: Herzaction sehr beschleunigt, Töne laut, regelmässig. Keine Verstärkung des Pulmonaltones.

Abdomen sehr stark aufgetrieben, nirgends schmerzhaft. Leber überragt nicht den Rippenbogen, Milzdämpfung vergrössert, Milz nicht zu palpieren.

Augenhintergrund: Papillen von normaler Farbe, normaler Schärfe und Umgrenzung; Venen mässig geschlängelt und beiderseits stark verbreitert.

3. Juni: Rechts hinten über der Lunge Schall etwas verkürzt; Pectoralfremitus etwas abgeschwächt. Zahlreiche grossblasige Rasselgeräusche nebst Schnurren

und Pfeifen über beiden Lungen. Keine Roseola. Puls ziemlich klein, aber regelmässig. Zunge trocken, stark belegt.

Die Temperatur überschritt in den ersten 2 Tagen (4. und 5. Krankheitstag) nicht 39°, stieg dann auf 40°, um nach 2 Tagen allmählich wieder zu sinken, und ging vom 12. Tage (15. Krankheitstag) ab nicht mehr über die Norm. Der anfangs starke Durchfall ging bald in Obstipation über; vom 11. Krankheitstage ab hatte Patientin täglich eine Stuhlentleerung. Der Urin enthielt Indican und etwas Eiweiss, sonst keine abnormen Bestandteile.

Diagnose: Typhus abdominalis.

Mit der Milch und dem Blutserum dieser Patientin wurden folgende Experimente angestellt:

Versuch I.

Am 5. Krankheitstage wurde der Frau in aseptischer Weise aus der linken Vena mediana Blut entnommen und Milch aus der Brustdrüse durch Aufsetzen eines Schröpfkopfes gewonnen. Die mit der Milch und dem Blutserum vorgenommene Agglutinationsprobe nach dem Widal'schen procédé extemporané ergab ein negatives Resultat.

An demselben Tage wurde einer Maus 0,5 ccm einer auf ihre Virulenz geprüften frischen Typhusbacillencultur unter die Haut injiciert. Zugleich erhielt eine II. Maus dieselbe Menge der gleichen Typhuscultur plus 0,5 ccm der eben erwähnten Ammenmilch subcutan einverleibt. Das Resultat dieses Experimentes war folgendes: Die erste Maus starb nach 18 Stunden; die zweite mit Typhuscultur und Milch behandelte Maus erlag schon nach 12 Stunden.

Versuch II.

Dieser wurde wegen heftiger Delirien erst am 9. Krankheitstage vorgenommen.

Die nun wiederholte Widal'sche Probe war für Milch und Blutserum positiv; und zwar liess sich die Agglutination durch erstere in einem Verhältnis von 1 auf 50, für letzteres im Verhältnis 1 auf 100 rasch und deutlich erkennen.

An diesem Tage wurde einer frischen Maus III 0,5 ccm einer virulenten Typhuscultur unter die Haut injiciert. Dieselbe Dosis derselben Cultur erhielt eine andere Maus IV, plus 1 ccm Milch, die an demselben Tage gewonnen war.

Maus III war nach 10 Stunden bereits sehr krank, nach 18 Stunden ging sie ein.

Maus IV machte nach 6 Stunden einen schwer kranken Eindruck, erholte sich aber bald und war nach 36 Stunden wieder ganz munter, was sie auch in der Folge blieb (mehrere Monate beobachtet).

Versuch II a)

ist die Wiederholung des letzten mit den Mäusen V und VI. Das Ergebniss war vollständig gleich. Die mit Typhuscultur injicierte Maus V erlag in kurzer Zeit, Maus VI dagegen, die zu der Typhuscultur 1 ccm Ammenmilch erhalten hatte, erholte sich und blieb am Leben.

Versuch III.

Dieser wurde am 11. Krankheitstage, d. h. am 7. VI. 98, begonnen mit der Injection von 1 ccm Ammenmilch an einer frischen Maus VII.

Die an diesem Tage wieder vorgenommene Widalsche Probe mit Milch und Blutserum zeigte, dass das Agglutinationsvermögen der ersteren demjenigen des Serum gleich war: beide agglutinierten deutlich im Verhältnis 1 : 100.

Am 8. VI. ist die Maus ruhig, bietet in ihrem Verhalten nichts Abnormes. Sie erhält eine zweite Injection von 1 ccm Milch.

Am 10. VI. morgens erhält sie eine dritte Spritze von derselben Quantität Milch. Abends 7 Uhr wird dieser vorbereiteten Maus VII, einer frischen Maus VIII und der überlebenden Maus IV vom Versuch II je 0,5 ccm einer und derselben frischen auf ihre Virulenz geprüften Typhuscultur injiciert. Sämmtliche drei Mäuse sind mehrere Stunden lang ruhig und träge. Am 11. VI. erscheint Maus VII vollständig normal, zeigt recht lebhafte Schreckreflexe. Maus VIII stirbt um 12 Uhr mittags. Die Maus IV von Versuch II hat sich sichtlich erholt, ist jedoch noch nicht ganz normal. Sie hält die Augen fast geschlossen und reagiert weniger lebhaft als Maus VII.

Aus dem Herzblut der toten Maus VIII liessen sich reine Typhusculturen züchten.

Am 14. VI. sind die zwei überlebenden Mäuse vollständig munter. Das Tier von Versuch II hat sich langsamer erholt und ist auch etwas abgemagert.

Versuch III a)

ist identisch mit Versuch III und ergibt die gleichen Resultate. Es wurden hierbei die frischen Mäuse IX und X und die von Versuch II a überlebende Maus VI benutzt.

Versuch IV.

Im Januar 1899, also 6 Monate nach den Experimenten, erwies sich eine der Mäuse, die mit Milch behandelt worden waren (Maus VII), als unempfindlich gegen Dosen von Typhusculturen, deren Hälfte genügte, um eine frische Maus innerhalb weniger Stunden zu töten.

Es sei noch bemerkt, dass vor den Versuchen II und III die angewandte Milch auf Typhusbacillen untersucht worden war. Es haben sich solche nie nachweisen lassen, ein Befund, welcher auf dem Institut für Bacteriologie von fachmännischer Seite bestätigt wurde (Dr. Bruns).

FALL II.

Auch im zweiten ähnlichen Falle war es möglich mit der Milch einer typhuskranken Amme Immunisierung einer Maus zu erzeugen.

Die Krankengeschichte dieser Person ist folgende:

E. M., 21 J. alt, aus Eckbolsheim. 18. VIII. 1898.

Anamnese: Patientin war stets gesund und bot keine Menstruationsanomalien. Partus am 8. Juni 1898. Vor 10 Tagen, also gerade zwei Monate nach der Entbindung, erkrankte sie mit Mattigkeit, Appetitlosigkeit, Kopfschmerzen und Fieber, welche Symptome allmählich an Intensität zunahmen. Patientin war die ersten Tage obstipiert, hatte nach Gebrauch von Abführmitteln reichliche Stuhlgänge; vor zwei Tagen trat wieder Obstipation auf. Sie befindet sich seit dem 12. Juli als Amme in einem Hause, in welchem ein schwerer Typhusfall constatiert worden ist. — Patientin hat bis gestern Abend das Kind gestillt.

Status am 18. August 98: Kräftige Person, frei von Oedem und Varicen. Das Aussehen ist gut; Lippen und Zunge bieten nichts Abnormes. Die Kniereflexe sind normal, das Sensorium völlig frei.

Der Thorax ist gut gewölbt; rechts hinten unten ist der Percussionsschall etwas verkürzt; sonst über den Lungen nichts Abnormes. Die Mammae sind stark gefüllt mit Milch, auf Druck sehr schmerzhaft. Das Herz ist normal. Puls etwas beschleunigt, kräftig, regelmässig, etwas weich.

Abdomen ist aufgetrieben, nirgends auf Druck schmerzhaft, trägt reichliche striae gravidarum. Keine

Roseolen. Hepar reicht zwei Finger breit unter den Rippenbogen. Milzdämpfung beginnt einen Finger unterhalb des Rippenbogens; ist nach oben wegen der Mammae nicht abzugrenzen. Milz ist nicht deutlich zu palpieren. Kein Ascites. Links in der Inguinalgegend Narbe eines geheilten Furunkels.

Der Urin ist reichlich, enthält mässige Mengen Indican. Die Trommer'sche Probe ist positiv; die Polarisation ergibt einen Zuckergehalt von 0,7 %.

20. VIII.: Allgemeinbefinden gut; keine Roseolen.

22. VIII. Keine Aenderung. Appetit ist vorhanden. Seit zwei Tagen Stuhlverhaltung. Nach einem Einlauf entleert sich reichlich Stuhl.

Zur Widal'schen Probe werden abends der rechten Vena basilica zwei Spritzen Blut entnommen.

24. VIII. Patientin ist seit gestern fieberfrei, das Abdomen bietet nichts Abnormes; der Puls ist ziemlich gross und weich. Die Widal'sche Reaction fiel positiv aus.

Es war dies zweifellos ein, wenn auch nicht ganz typischer (das Fieber überschritt nie 38,2 °), so doch diagnostisch nicht zu verkennender leichter Typhusfall.

Der Verlauf des mit der Milch dieser Frau veranstalteten Experiments ist folgender:

Es wurde einer Maus 0,5 ccm einer Typhuscultur injiciert, jedoch ohne Wirkung. Zwei Tage später erhielt dieselbe Maus 2,0 ccm der gleichen Cultur: nach 12 Stunden war sie tot. Nachdem so die Virulenz dieser Cultur geprüft war, wurde einer zweiten Maus 0,5 ccm dieser Cultur plus 2,0 ccm Milch der typhuskranken Amme injiciert, doch blieb dieser Eingriff vollständig wirkungslos. Zwei Tage später erhielt diese

zweite Maus 2,0 ccm der Cultur, welcher die erste Maus erlegen war; es trat ein vorübergehendes Unwohlsein des Tieres ein, nach 24 Stunden hatte sich die Maus wieder erholt.

Zunächst wäre die Frage der Pathogenität des Typhusbacillus für Tiere, welche für die Beurteilung der dieser Arbeit zu Grunde liegenden Experimente von Wichtigkeit ist, kurz zu erläutern.

Die Frage, welcher Art überhaupt die pathogene Wirkung des Typhusbacillus auf Tiere sei, war lange Zeit ein Gegenstand des Streites zwischen den verschiedenen Autoren. Die ursprüngliche Ansicht war (Gaffky), dass der Typhusbacillus gar keine pathogenen Eigenschaften für Tiere besitze. Doch wurde bald erkannt und verschiedenerseits bestätigt, dass der Typhusbacillus alle Versuchstiere zu töten vermag, wenn er nur in genügender Menge einverleibt wird. Meinungsverschiedenheit herrschte jetzt noch über die Art der Giftwirkung der Bacillen, indem eine Anzahl Forscher behaupteten, dass die Bacterien sich im Tierkörper nicht zu vermehren imstande wären und bloss durch die mit ihnen übertragenen Giftstoffe, also durch Intoxication, verderblich wären. Doch wurde bald der Beweis erbracht, dass sich die eingeführten Bacillen im Tierorganismus, wenn auch in begrenzter Weise, vermehren können und zwar auf den serösen Häuten [1]). Dann war nicht zu bezweifeln, dass nach Injection in seröse Höhlen eine gewisse Anzahl von Bacillen auch in die Blutbahnen gelangt. Die Anlegung von Culturen

[1]) Petruschky. Ueber die Art der pathogenen Wirkung des Typhusbacillus auf Tieren. Zeitschr. f. Hyg., B. XII, 1872, p. 261.

mit dem Blute der verschiedensten Organe ergab stets ein positives Resultat; was auch mit dem Herzblut der in unserem Versuch III. gestorbenen Maus VIII bestätigt werden konnte. Es ist aber hier, wie Petruschky besonders hervorhebt, das Blut nur der Träger der Bacillen von einem Körperteil zum andern, nicht der Ort der Vermehrung.

Auf die Thatsache der Vermehrung und Verbreitung der Typhusbacillen im Tierkörper begründet sich die Ansicht einiger Autoren, wie Fraenkel und Simmonds, Chantemesse und Widal, welche behaupteten, dass sich bei Tieren durch Einführung weniger Typhusbacillen eine richtige Infection erzielen lasse, eine echte Septicaemie.

Mehrere Jahre hindurch standen die Anhänger einer Intoxication der Versuchstiere durch die Typhusbacillen und die mit ihnen einverleibten Gifte denjenigen einer Infection schroff gegenüber. Pfeiffer und Kolle [1]) haben nach Injection des Eberth'schen Bacillus in das Peritoneum den in letzterem sich abspielenden Process mikroskopisch verfolgt, indem sie mittelst feiner Glascapillaren Exsudat aus dem Bauchfellsack entnahmen. Sie beobachteten, dass in den ersten Stunden nach der Injection die Bacillen sich lebhaft bewegten und vermehrten. Bei Mengen, welche die minimale tötliche Dosis nicht erreichten, machten sich allmählich bacterientötende Eigenschaften des Tierkörpers geltend, welchen es unter Umständen gelang, sämmtliche Bacillen zu vernichten. Bei hohen Dosen virulenter Culturen dagegen, erwiesen sich die Abwehrkräfte des Organismus als ohnmächtig gegenüber der

[1]) Ueber die specifische Immunitätsreaction der Typhusbacillen. Zeitschr. f. Hyg., Bd. 21, 1896, p. 203.

fortschreitenden Vermehrung der Bacterien, denen das Tier schliesslich erlag.

Die Vertreter der Intoxicationstheorie, welche die Vermehrung der Bacillen im Tierkörper leugnen, haben nun, wie aus ihren eigenen Angaben hervorgeht, zu ihren Versuchen alte oder auf ungeeigneten Nährböden gewachsene Culturen, deren Virulenz somit sehr fraglich sein möchte, verwendet, während diejenigen, welche eine echte Infection erzielten, sich nur frischer virulenter Culturen bedienten. So ist es denn ausser Zweifel, dass die entstandene Meinungsverschiedenheit bloss auf einem Unterschied in der Virulenz der angewandten Culturen beruhte, und dass die Tiere, wenn sie auch im Grossen und Ganzen weniger empfänglich für die Typhusinfection und -intoxication als die Menschen sind, in ähnlicher Weise wie letztere erkranken und erliegen können, wofern nur genügende Dosen einverleibt werden.

In den oben protocollierten Versuchen handelt es sich um die Abschwächung dieser Giftwirkung virulenter Typhusbacillen auf Mäuse durch subcutane Injection von Milch typhuskranker Ammen.

Es ist in jüngster Zeit eine Menge von Immunisierungsmethoden versucht und geprüft worden, welche meist zu mehr oder minder positiven Resultaten geführt haben.

Das einfachste Verfahren ist wohl die Injection kleinster Dosen der ungeschwächten Typhuscultur, wie es von Beumer und Peiper [1]), sowie von Chantemesse und Widal [2]) geübt wurde. Sie erreichten

[1]) Centralblatt für klinische Medizin, 1886, Nr. 37.

[2]) Annales de l'Institut Pasteur, VI., p. 744.

auf diese Weise in kurzer Zeit einen ansehnlichen Grad von Immunität der Versuchstiere gegen den Infectionsträger. Andere Autoren verwendeten dazu Typhusculturen, welche sie zuvor auf 60°, 100° und 120° erwärmt hatten. Brieger, Kitasato und Wassermann [1]) beobachteten, dass die Typhusbacillen, ebenso wie andere Bacterien, auf Thymusauszügen rasch und üppig wachsen. Die von ihnen hergestellte Thymus-Typhus-bouillon besass die wichtige Eigenschaft, dass nach dreitägiger Züchtung die in den Zellen der Thymus enthaltenen antitoxischen Stoffe das specifische Typhusgift die Toxicität in hohem Grade abgeschwächt hatten, während die immunisierende Kraft wohlerhalten blieb. Nach 15 Minuten langer Erhitzung der Bouillon auf 60° konnte den Versuchstieren ohne nachteilige Folgen die zur Schutzimpfung notwendige Dosis von 0,5 ccm injiciert werden. Denselben Forschern gelang es, durch Impfung mit dem Blutserum immunisierter Tiere „die specifische Schutz- und Heilkraft des specifischen Blutserums" klarzustellen.

Bitter [2]) immunisierte Kaninchen mit dem Filtrat einer auf $^1/_{10}$ ihres Volums concentrierten virulenten Bouilloncultur. Er mischte 10 ccm Blutserum eines so immunisierten Tieres mit der als tötlich erwiesenen Dosis dieser Cultur und injicierte diese Flüssigkeit einem frischen Kaninchen: Dieses zeigte nicht die geringsten Krankheitserscheinungen.

Zahlreiche Versuche von Pfeiffer und Kolle [3]) haben zu folgenden Schlüssen geführt: das normale

[1]) Ueber Immunität und Giftfestigung. Zeitschr. für Hyg., B. XII, p. 137.

[2]) Ueber Festigung von Versuchstieren gegen die Toxine der Typhusbacillen. Zeitschr. f. Hyg., B. XII, p. 137.

[3]) Loc. cit.

Blutserum des Meerschweinchens übt einen gewissen bactericiden Einfluss gegen die Infection mit Typhusbacillen aus. Diese Wirkung erstreckt sich auch auf andere ähnliche Bacterien. Dies letztere ist jedoch mit dem Serum von Typhusreconvalescenten nicht der Fall. In diesem Punkte ist also das Serum von Typhusreconvalescenten qualitativ vom normalen Serum verschieden: seine Wirkung ist eine ausschliesslich specifische. Eine quantitative Differenz besteht darin, dass die 20—100fache Dosis des normalen Serums erforderlich ist, um die Wirkung des Thyphusreconvalescentenserums hinsichtlich der Infection mit Typhusbacillen zu erzielen.

P. Ehrlich [1]) beschäftigte sich mit der Frage der Immunität bei Tieren durch Vererbung und Säugung. Die Versuche über Immunität durch Vererbung sind an den Jungen von Eltern angestellt worden, von denen entweder der Vater oder die Mutter künstlich gegen die giftigen Pflanzeneiweissstoffe Ricin und Abrin hoch immunisiert worden waren. Bei der Wahl dieser Stoffe, welche in ihrem Verhalten täuschende Analogieen mit den Infectionsträgern darbieten, war besonders der Umstand massgebend, „dass hierbei ohne Mühe hohe Immunitätsgrade erreicht werden konnten, dass den letzteren eine grosse Stabilität innewohnte, und dass die quantitative Bestimmung eine leichte und absolut genaue war". Es ergab sich mit Sicherheit aus diesen Versuchen, dass die Nachkommen einer normalen Mutter und eines hoch-Abrin-immunen Vaters nicht den geringsten Grad von Giftfestigkeit besassen, im Gegenteil eine gesteigerte Empfindlichkeit gegen dieses Toxalbumin aufwiesen. Die Jungen einer vor-

[1]) Ueber Immunität durch Vererbung und Säugung. Zeitschr. f. Hyg. B. XII, p. 183.

behandelten Mutter hingegen und eines normalen Vaters zeigten durchweg eine ausgesprochene Immunität. Letztere pflanzte sich jedoch nicht auf die Enkelgeneration fort. Diese Ergebnisse berechtigten Ehrlich zur Schlussfolgerung, „dass eine erbliche Uebertragung der Immunität hier im eigentlichen Sinne des Wortes nicht stattfindet".

Zur Untersuchung der Frage der Säugungsimmunität stellte Ehrlich den sog. Vertauschungs- oder Ammenversuch derart an, dass eine hoch-Abrin-immune Maus Säuglinge einer normalen Mutter erhielt, während letztere die Jungen des vorbehandelten Tieres säugte. Die Milch der immunen Amme verlieh den Säuglingen einen relativ hohen Grad von Immunität, während die immungeborenen Jungen nach der Säugung an der indifferenten Amme bereits nach drei Wochen den grössten Teil ihrer Giftfestigkeit eingebüsst hatten.

Wir kommen schliesslich auf die Immunisierungsversuche F. Klemperers [1]), welche wohl den hier publicierten am nächsten zu stehen kommen. Klemperer immunisierte eine Ziege, welche kurz vorher geworfen hatte, in der ersten Zeit durch subcutane, später durch intraperitoneale Injection immer steigender Dosen einer durchschnittlich 10 Tage alten Typhusbouilloncultur. Nach circa $6\frac{1}{2}$ monatlicher Behandlung war die Immunisierung des Tieres bereits soweit vorgeschritten, dass es die intraperitonale Einspritzung von 200 ccm Typhusbouilloncultur ohne Gefahr ertrug. Die erste Injection erhielt das Tier am 18. Juli 1892 (1 ccm subcutan); der erste Impfschutzerfolg mit der Ziegenmilch wurde am 6. September verzeichnet (die letzte Einspritzung, am

[1]) Ueber natürliche Immunität und ihre Verwertung für die Immunisierungstheorie. Archiv f. experimentelle Pharmakologie und Pathologie, Bd. XXXI, 1893, p. 356.

30. August, betrug 10 ccm intraperitoneal). Die Fortschritte der Immunisierung wurden von Zeit zu Zeit durch Mäuseversuche bestätigt; das Endresultat war folgendes: Am 27. Februar 1893 (21 Tage nach der schon erwähnten Injection von 200 ccm Typhuscultur) genügte 0,01 ccm Ziegenmilch, intraperitoneal einer Maus eingeführt, um die Wirkung von 0,05 ccm virulenter Typhusbouillon aufzuheben. Klemperer untersuchte sodann das Verhältnis zwischen dem Immunisierungswert der Milch und dem des Blutserums; es gelang ihm schon durch intraperitoneale Einführung von 0,001 ccm Serum eine Maus vor der Wirkung von 0,05 auf ihre Virulenz geprüfter Typhuscultur zu schützen. Von ganz besonderem Interesse sind nun die sich hieran anschliessenden Experimente der Immunisierung mittelst durch den Darmtractus resorbierter antitoxischer Flüssigkeit. Die Milch der immunisierten Ziege wurde stillenden Wöchnerinnen verabreicht, und zwar im I. Falle ohne jede Vorbereitung, im II. Falle nach vorheriger Einnahme von je 2,5 gr Natr. bicarbon. zur Neutralisation der Magensäure, im III. Falle wurde die Milch per Klysma eingeführt. Die dem ersten Versuche unterzogene Wöchnerin nahm vom 12.—18. Oktober 1892, also 7 Tage lang, je 700–800 ccm Ziegenmilch ein; aus ihren Brustdrüsen wurden vom 11.—19. Oktober täglich je 10–15 ccm Milch exprimiert: Milchproben I—IX. Von den Milchproben I, III, V, VII, IX wurde je 4 Mäusen 1 ccm intraperitoneal injiciert. Am folgenden Tage wurde je 2 dieser Mäuse 0,05 ccm Typhusbouillon-cultur, den 2 andern 0,1 ccm derselben Cultur intraperitoneal eingeführt. Zwei frische Controlmäuse erhielten zugleich 0,05 ccm derselben Cultur. Die Tiere starben alle mit Ausnahme der 4 mit Milchproben VII und IX behandelten Mäusen, welche 0,05 ccm Typhuscultur erhalten hatten.

Die zweite Wöchnerin trank 7 Tage lang je 150 bis 200 ccm Ziegenmilch, nachdem sie jedesmal 2,5 gr Natr. bicarbon. eingenommen hatte. An jedem dieser Tage wurden die Milchproben I—VII aus ihrer Brustdrüse exprimiert. Die ersten 6 Milchproben wurden in derselben Weise wie im vorigen Versuche geprüft.

Es überlebten nur von Milch V eine der beiden mit 0,05 ccm Cultur vergifteten Mäuse, von Milch VI beide mit 0,05 ccm und eine mit 0,1 ccm behandelte nach längerer Erkrankung. Von Milchprobe VII erhielten Maus I–IV je 1 ccm intraperitoneal, Maus V und VI je 0,5 ccm intraperitoneal. Am folgenden Tage wird den Mäusen I, V und VI, sowie den Controlmäusen VII und VIII je 0,05 ccm Typhuscultur intraperitoneal injiciert; der Maus II 0,075 ccm, der Maus III 0,1 ccm der Maus IV 0,2 ccm derselben Cultur. Am nächsten Morgen sind Mäuse V, VI, VII und VIII tot, Mäuse III und IV sind sehr krank und sterben am Nachmittage, Mäuse I und II sind nicht ganz munter, werden es aber bis zum folgenden Tage.

Zum III. Versuche erhielt eine Wöchnerin, nachdem ihr zuvor ein Reinigungsklysma gegeben, 5 Tage lang je zwischen 150 und 250 ccm Ziegenmilch per Klysma. Vom Tage der ersten bis zum Tage nach der letzten Eingabe wurden die Milchproben I bis VI aus den Brustdrüsen exprimiert. Von jeder Milchprobe erhielten je 3 Mäuse 1 ccm intraperitoneal; am folgenden Tage wurde ihnen, zugleich mit zwei Controlmäusen, je 0,05 ccm Typhusbouilloncultur intraperitoneal injiciert. Es überlebten: eine mit Milch III behandelte Maus, alle mit Milch IV und V behandelten. Von Milchprobe VI erhielten Mäuse I bis IV je 1 ccm intraperitoneal; am folgenden Tage Mäuse I und II 0,1 ccm Typhuscultur, Mäuse III und IV 0,05 ccm, Controlmäuse V

und VI 0,05 ccm derselben Cultur. Am nächsten Morgen waren Mäuse V und VI tot, III und IV sind munter, I und II sind krank, erholen sich am Nachmittage.

Wir kommen jetzt auf unsere Versuche:

Der am 5. Krankheitstage vorgenommene Versuch I zeigt, dass zu dieser Zeit die Milch jedenfalls keine bactericiden, vielleicht sogar giftige Substanzen enthielt, denn die Maus, welcher ausser 0,5 ccm Typhuscultur noch 0,5 ccm Milch injiciert worden war, starb 6 Stunden früher als die nur mit 0,5 ccm Cultur behandelte Maus. Dagegen wurden 4 Tage später, als die Experimente II und II a angestellt wurden, durch Injection von 1 ccm Ammenmilch die Versuchstiere vor der Wirkung der sonst tötlichen Dosis von 0,5 ccm Typhuscultur geschützt. Der Versuch III, sowie der Versuch III a begannen mit der Vorbereitung von je einer Maus durch dreimalige Einspritzung von 1 ccm Ammenmilch am 7., 8. und 10. VI. Diese Tiere waren nach der Injection von 0,5 ccm virulenter Typhuscultur einige Stunden lang ruhig und träge, dann aber vollständig normal, während die am Leben gebliebenen Mäuse von Versuch II und II a, denen ebenfalls 0,5 ccm derselben Cultur einverleibt wurde, drei Tage zu ihrer Erholung brauchten. Die frische Controlmaus starb nach 17 Stunden.

Zu dem Versuche mit der zweiten typhuskranken Amme wurde zuerst die anzuwendende Typhuscultur auf ihre Virulenz geprüft: eine Maus, welcher 0,5 ccm der Cultur ohne Wirkung injiciert worden war, erhielt zwei Tage später 2,0 ccm derselben Cultur subcutan; nach 12 Stunden war sie tot. Einer zweiten Maus wurde 0,5 ccm der Cultur plus 2,0 ccm typhuskranker

Ammenmilch ohne Wirkung injiciert. Zwei Tage später trat nach Einspritzung von 2,0 ccm der Cultur nur ein vorübergehendes Unwohlsein auf.

In allen Versuchen, mit Ausnahme des ersten, ist also eine Immunisierung durch die Milch erzielt worden. Die Immunität erwies sich bei den durch dreimalige Injection vorbereiteten Mäusen stärker, als bei den Mäusen, denen nur einmal 1,0 ccm einverleibt worden war. Die Giftfestigkeit bestand, wie bei einem der Tiere, Maus VII, festgestellt wurde, sechs Monate später noch in hohem Grade. Das negative Resultat der bacteriologischen Untersuchung der Milch vor dem II. und III. Versuch beweist, dass die immunisierenden Eigenschaften nicht mit der Anwesenheit von Bacillen zusammenhängen.

Aus den Bestimmungen Klemperers wissen wir dass der Immunisierungswert der Milch ein geringerer ist als der des Blutserums, und zwar beträgt das Verhältnis dieser Werte 1:10. Der Gedanke liegt nahe, zur Erklärung dieser Eigentümlichkeit einen Zusammenhang zwischen ihr und den von Buchner[1]) aufgestellten Theorieen über die Träger der Schutzstoffe in den zellenfreien Körpersäften zu suchen. Durch mehrfache Untersuchungen von Buchner, Stern, Pfeiffer und Kolle und Andern ist nämlich nachgewiesen worden, dass dem Blute und dem zellenfreien Blutserum verschiedener Tiere und auch des Menschen, ebenso den sonstigen Körperflüssigkeiten, die Fähigkeit zukommt, gewisse Krankheitserreger im Organismus zu vernichten. Buchner (loc. cit.) ist der Ansicht, dass es die Eiweisskörper des Serums sind, die „als Sitz und Träger der schützenden Wirkungen

[1]) Die neuen Gesichtspunkte der Immunitätsfrage. Berlin 1892.

betrachtet werden müssen". Honigmann[1]) war durch seine Untersuchungen zur Ueberzeugung gekommen, dass die Milch gesunder Frauen keine bacterientötende Wirkung gegen Cholera- und Typhusbacillen oder gegen den Staphylococcus besitze. Da nun der Frauenmilch ein viel geringerer procentualer Eiweissgehalt als dem Blutserum zukommt, suchte er, auf Buchners Behauptung sich stützend, den Unterschied beider Flüssigkeiten zu erklären: nachdem er nämlich das Blutserum mit sterilisiertem Wasser oder physiologischer Kochsalzlösung so verdünnt hatte, dass sein relativer Eiweissgehalt dem der Frauenmilch gleichkam, konnte er beobachten, dass auch das also verdünnte Blutserum seine bacterienvernichtenden Eigenschaften eingebüsst hatte.

Es wäre an typhuskranken Ammen das Verhältnis der Immunisationskraft der Milch zu der des Blutes zu bestimmen. Daraus würden sich entscheidende Gesichtspunkte zu der Beurteiluug der Buchnerschen Theorie gewinnen lassen.

Die Ergebnisse der in den vorliegenden Versuchen wiederholt vorgenommenen Widal'schen Agglutinationsprobe sowohl mit dem Blutserum als mit der Milch der typhuskranken Ammen erscheint uns von gewissem Interesse.

Es knüpft sich bereits eine so umfangreiche Litteratur an diese von Widal[2]) zuerst zu diagnostischen Zwecken in die Praxis eingeführte Verwertung der Gruber'schen Reaction, dass wir darauf verzichten können, ihre theoretische Grundlage, sowie

[1]) Bacterialogische Untersuchnngen über Frauenmilch. Zeitschr. f. Hyg., B. XIV, 1893.

[2]) Séances de la Société médicale des Hôpitaux, 26 Juin 1896. Semaine médicale 1896, p. 259.

ihre practische Ausführung und ihren Wert in nähere Betrachtung zu ziehen.

Nachdem Widal (loc. cit.) schon gezeigt hatte, das ausser dem Blutserum auch das frische Blut und das getrocknete Serum von Typhuskranken die Agglutination der Bacillen herbeiführe, wies er im Verein mit Sicard [1]) nach, dass Versuche mit Vesicatorienflüssigkeit, mit den Exsudaten der verschiedensten Körperhöhlen, mit der Galle, dem Humor aqueus, den Thränen, der Cerebrospinalflüssigkeit ebenfalls ein positives Resultat ergeben. Achard und Bensaude [3]) beobachteten hingegen, dass der Urin, auch wenn er eiweisshaltig ist, nicht immer agglutinierende Eigenschaften besitzt. Die beiden letzteren Autoren [3]) waren es, welche zuerst über Agglutinationsversuche mit der Milch typhöser Frauen berichten. Es handelte sich hier um eine im Hôpital Beaujon behandelte 26jährige Frau, welche ihr 2 Monate altes Kind stillte. Die klinischen Symptome liessen über die Natur der Erkrankung keinen Zweifel bestehen; auch war die Diagnose durch die Untersuchung des Blutserums, welches eine typische Agglutination des Eberth'schen Bacillus bewirkte, bestätigt worden. Die Milch dieser Amme wurde im Verhältnis 1:10 mit jungen Bouillonculturen von Typhusbacillen gemischt und erzeugte eine Agglutination in voluminösen Häufchen. Zur Controlle wurde dasselbe Experiment mit der Milch von sechs andern Ammen vorgenommen, von denen drei

[1]) Bulletin de l'Académie de Médecine, 29 Sept. 1896.

[2]) Recherches sur la présence de la propriété agglutinante dans le plasme sanguin, et les divers liquides de l'organisme. C.-R. de l'Académie des Sciences, 28 Sept. 96.

[3]) Fièvre typhoïde chez une nourrice et agglutination du bacille d'Eberth par le lait. Bull. et Mém. de la Société médic. des Hôpitaux, 31 Juillet 95.

gesund waren, die eine an Cholelithiasis mit Icterus, eine andere an acutem Gelenkrheumatismus und die letzte an einer durch den Staphylococcus aureus bedingten Phlegmone des Oberschenkels litt. In keinem der sechs Fälle konnte die typische Agglutination beobachtet werden. Die Untersuchung des Blutserums des Säuglings, welcher vollständig gesund geblieben war, ergab keine Agglutination.

Fast zu gleicher Zeit erschien in der „Presse médicale" eine Mitteilung von Thiercelin und Lenoble[1]), welche die Agglutinationsprobe mit der Milch einer typhösen Amme und dem Blutserum ihres Säuglings angestellt hatten. Es war eine im Hôpital St. Antoine aufgenommene 35jährige Frau, die am sicheren Typhus abdominalis erkrankt war. Die Probe der Serumdiagnose hatte ein absolut positives Resultat ergeben. Die Milchprobe wurde am 18. Krankheitstage derart angestellt, dass zu 30 Tropfen einer Typhusbacillencultur 5 Tropfen Milch hinzugesetzt wurden; nach 10 Minuten war die Beweglichkeit der Bacillen bereits sehr vermindert, nach einer Stunde war die Agglutination sehr deutlich, wenn auch einige wenige freigebliebene Bacillen noch mit einer herabgesetzten Bewegungsfähigkeit begabt waren. Der Versuch wurde wiederholt und zeigte nach 15 Minuten eine beginnende Agglutinierung, welche in kurzer Zeit characteristisch wurde. Eine in derselben Weise behandelte Colibacillencultur liess keine Reaction erkennen.

Die Wirkung des Blutserums des Kindes wurde nach dem „procédé extemporané" und dem „procédé de culture à l'étuve" geprüft, blieb aber in beiden Fällen gleich negativ.

[1]) Action agglutinante du lait d'une typhique sur les cultures du bacille d'Eberth. Presse médicale, 5 Août 1896.

Mossé [1]), welcher Gelegenheit hatte, das Colostrum einer im sechsten Monate schwangeren typhuskranken Person auf seine agglutinierenden Eigenschaften zu untersuchen, stellte in vier während der Krankheit und der Reconvalescenz angestellten Proben mit Sicherheit fest, dass auch dieses Secret eine agglutinierende Wirkung auf den Eberth'schen Bacillus besitzt. Derselbe Autor konnte im Verein mit Daunic [2]) drei Monate nach der Genesung der Kranken eine Agglutinationsprobe mit ihrer Milch anstellen. Es ergab sich, dass auch dann noch eine deutliche Agglutination nach dem „procédé extemporané" im Verhältnis 1 : 10 zu Tage tritt.

In seiner Arbeit „Ueber Antikörper in der Milch" bestätigte Kraus [3]) das Vorhandensein der agglutinierenden Substanzen in der Milch einer gegen Typhusinfection immunisierten Ziege.

So erscheint denn die Thatsache, dass die Milch ebenso wie das Blutserum von Typhuskranken agglutinierende Eigenschaften besitzt, als bewiesen und anerkannt. Wir möchten daher den Umstand, dass in den vorliegenden Versuchen die Agglutination der Eberth'schen Bacillen mit der Milch einer der typhösen Ammen beobachtet wurde, als eine nochmalige Bestätigung des bereits aufgestellten Satzes betrachten. Doch glauben wir einen besonderen Wert darauf legen zu müssen, dass bei der Agglutinationsprobe im Versuch I sowohl die Milch als auch das Blutserum der Kranken

[1]) Action agglutinante du colostrum sur le bacille d'Eberth. Soc. médic. des Hôp., 27 Nov. 1896.

[2]) Soc. médic. des Hôp., 5 Mars 1897.

[3]) Centralblatt für Bacteriologie und Parasitenkunde, 1897, B. XXI, p. 592.

ein negatives Ergebniss aufwiesen, während vier Tage später eine zweite Probe für Serum und Milch positiv ausfiel. Das erste Experiment wurde am fünften Krankheitstage gemacht, zu einer Zeit, wo die Widal'sche Serumreaction nach den aufgestellten Statistiken [1]) noch keineswegs eine regelmässige ist. Dagegen war bereits am 9. Krankheitstage die Agglutinationserscheinung für das Serum noch bei hoher Verdünnung (1 : 100) sehr stark, für die Milch dagegen erst im Verhältnis 1 : 50 beginnend. Dieser Umstand scheint dafür zu sprechen, dass das Agglutinationsvermögen in der Milch und im Blutserum annähernd zu gleicher Zeit auftritt. Dagegen scheinen quantitative Unterschiede in der Agglutinationskraft des Serums und der Milch wenigstens anfangs zu bestehen, und zwar muss nach dem Versuch angenommen werden, dass die agglutinierende Kraft der Milch gegenüber der des Serums zunächst eine geringe ist. Leider war die Kranke am Tage nach der ersten Reactionsprobe in starke Delirien verfallen, was die unmittelbare Fortsetzung der Experimente verhinderte.

Das Auftreten der agglutinierenden Substanzen in der Milch ist anscheinend ein allmähliches und ein langsameres als im Serum, da zwei Tage nach der zweiten Milchreactionsprobe die Agglutinationsfähigkeit auf das Doppelte gestiegen war: eine Verdünnung von 1 : 100 bewirkte nämlich eine characteristische Reaction. Es kann also unter Umständen die Agglutinationskraft der Milch wenigstens annähernd so stark sein wie die des Blutserums. Die Thatsache, dass die Reaction in der Milch langsamer auftrat als im Serum, würde aber

[1]) Raoul Bensaude: Le phénomène de l'agglutination des microbes et son application à la pathologie. Thèse, Paris 1897.

mit der Behauptung von Courmont[1]) übereinstimmen, dass die agglutinierenden Eigenschaften aus dem Blute, welches die letzteren stets in höherem Masse besitzten, secundär in verschiedenen Verhältnissen in die Körperflüssigkeiten eindringe.

Von gewisser Bedeutung ist der Umstand, dass in der zu den Versuchen II und III verwendeten Ammenmilch trotz genauester Nachforschung keine Typhusbacillen zu ermitteln waren.

Ménétrier machte in der Sitzung vom 4. Dez. 1896 der „Société médicale des hôpitaux" von einem Falle von Typhus bei einem 18jährigen Jüngling Mitteilung, der mit einem pleuritischen Exsudat rechts compliciert war. Bei Punction der Pleura entleerte sich eine fibrinreiche, leicht rötlich gefärbte Flüssigkeit, welche, mit einer Typhusbacillencultur in Berührung gebracht, weder unter dem Mikroskop noch im Brutkasten eine Agglutination der Bacterien bewirkte. Dagegen ergab die Züchtung einiger Tropfen des Exsudats auf Agar eine reine Typhusbacillencultur. Die Pleuraflüssigkeit enthielt also Typhusbacillen und besass keine agglutinierenden Eigenschaften. Courmont[2]), welcher mehrere Untersuchungen in dieser Richtung angestellt hat, neigt zur Annahme, dass die agglutinierende Kraft in Flüssigkeiten oder Organen durch die Gegenwart von Typhusbacillen vermindert wird.

Dem gegenüber, und zwar als bestätigendes Gegenstück, steht unser Fall von hoher Agglutinationskraft der Milch bei vollständiger Keimfreiheit.

[1]) Répartition, formation et destruction de la substance agglutinante chez les typhiques. C.-R. de la Société de biologie, 20, 27 Mars 1897.

[2]) Disparition in vitro du pouvoir agglutinant des humeurs des typhiques lorsqu'on y cultive les bacilles d'Eberth. Société de biologie, 27 Mars 1897.

Unsere Patientinnen haben zur Zeit der typhösen Infection gestillt, und zwar nicht ihre eigenen, sondern fremde Kinder. Beide Kinder sind vollständig gesund geblieben. Leider konnten aus äusseren Gründen keine Agglutinationsversuche mit ihrem Blutserum gemacht werden. Doch erhellt aus dieser Thatsache, dass die Gefahr der Infection des Säuglings durch die Ammenmilch jedenfalls nur eine geringe ist. Wie bereits erwähnt, enthielt die Milch keine Typhusbacillen, ein Befund, der mit dem Gesundbleiben der Kinder im Einklang steht.

Klemperer hatte zu seinen Experimenten die antitoxischen Substanzen in verschiedener Weise seinen Versuchsobjecten einverleibt. Ehrlich hatte seine Versuche mit der Milch künstlich gegen Abrin und Ricin immunisierter Tiere angestellt. Aus den Ergebnissen seiner schon erwähnten Vertauschungs- und Ammenversuche hatte Ehrlich den wichtigen Satz gezogen, dass die Milch als solche imstande ist, den Antikörper dem Säuglinge zuzuführen und ihm eine hohe mit der Dauer der Säugung wachsende Immunität zu verleihen". Aus allen in der Litteratur berichteten Fällen von Säugung durch eine typhöse Amme geht mit Bestimmtheit hervor, dass das Kind von der Infection unberührt blieb. Dass aber die Milch einer an Typhus erkrankten Amme Antikörper enthält, und dass letztere wiederum durch Uebertragung in einen fremden Organismus bacterienfeindliche Eigenschaften entwickeln können, geht aus den hier vorliegenden Versuchen mit Gewissheit hervor; genügte doch die Einverleibung von 1,0 ccm typhuskranker Ammenmilch, um bei einer Maus die Wirkung einer Dosis Typhusbacillencultur aufzuheben, welche sonst das Tier in 28 Stunden zum Tode führt. Es kann deshalb angenommen werden, dass

durch die Milch der typhuskranken Amme die Kinder in gewissem Masse immunisiert waren.

Es ist von verschiedenen Autoren, zuerst besonders von Widal, betont worden, dass die Agglutination nicht eine Immunitätsreaction, sondern eine Infectionsreaction sei. Das Agglutinationsvermögen kann im Serum eines Reconvalescenten verschwinden zur Zeit, wo die Immunität im höchsten Grade vorhanden ist. Andererseits aber kann Agglutination bestehen kurz vor einem Recidiv, in welchem Falle von Immunität nicht die Rede sein kann. Auch ist festgestellt worden (Achard), dass die Agglutinationskräfte, welche schon in Abnahme begriffen waren, bei Eintritt eines Recidivs wieder steigen. Die Lehre, dass die Leucocyten die Träger der agglutinierenden Substanzen seien, wurde von Achard und Bensaude [1]) und von Widal und Sicard [2]) widerlegt. Letztere Autoren machten auch die höchst interessante Beobachtung, dass durch Fällung der albuminoiden Substanzen aus den agglutinierenden Flüssigkeiten letzteren ihre Wirkung entzogen wird. Die isolierten Eiweisskörper: Globulin, die fibrinogenen Substanzen, Caseïn besitzen hingegen die Fähigkeit, die Typhusbacillen zu agglutinieren.

Die Analogie dieser Beobachtung mit den schon besprochenen Theorien Buchners über die Immunität weist jedoch auf einen gewissen Zusammenhang hin.

Beim ersten Experiment, wo die Milch keine immunisierenden Eigenschaften besass, war auch weder durch die Milch noch durch das Blut Agglutination zu erzielen; beim zweiten Experiment dagegen waren

[1]) C.-R. de l'Académie des Sciences. XXIII, p. 503.

[2]) Bull. de l'Académie de Médecine, 29 Sept. 1896.

sowohl Agglutinations- wie Immunisations - Versuche positiv. Wie bereits erwähnt, verhinderte leider der Zustand der Patientin nach dem ersten Versuche die unmittelbare Fortsetzung der Experimente, so dass ein Zeitraum von vier Tagen bis zur Vornahme des zweiten Versuches verstrich.

Vergleichende Untersuchungen über das zeitliche Auftreten von Agglutinations- und Immunisierungsvermögen werden hier noch nötig sein, ehe man mit allzu grosser Bestimmtheit erklären kann, dass es sich in solchen Fällen nur um Zufall handelt.